محیط زیست طبیعی، منابع طبیعی ایران، دوره ۷۲ ، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۸

صفحات ۱۵۹تا ۱۷۲

تغییرات فصلی مقادیر گلیسرول در لارو حشرات (مطالعه موردی: رودخانه زاینده رود)

بهناز انصاری[۱]؛ امیدوار فرهادیان *[۲] و جواد کرامت[۳]

۱- دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته بوم شناسی آبزیان دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان

۲ - دانشیار گروه شیلات دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان

۳- دانشیار گروه گروه علوم و صنایع غذایی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت ۹۷/۰۷/۱۷ - تاریخ پذیرش ۹۷/۰۹/۲۷)

چکیده:

در سال‌های اخیر تغییرات اقلیمی جهانی و خشک‌شدن منابع آبی از مهمترین تنش های محیطی برای حیات آبزیان بوده است که سطح دما و رطوبت قابل تحمل آن‌ها را تغییر می‌دهد. دیاپوز و آنهیدروبیوزیز از جمله سازگاری‌های موجودات برای بقا هستند. تجمع قندها و پلی ال‌ها یک ویژگی فیزیولوژیکی رایج در میان موجودات زنده آنهیدروبیوتیک است. در این مطالعه تغییرات گلیسرول در لارو حشرات بررسی شد. نمونه‌برداری به‌صورت فصلی به‌مدت یک سال از پاییز ۱۳۹۴ تا تابستان ۱۳۹۵ از دو ایستگاه خرسونک و کلیچه واقع در مناطق بالا دست رودخانه زاینده رود انجام شد. نمونه‌ها پس از خشک شدن، عصاره‌گیری شد و محلول نهایی به دستگاه HPLC تزریق شد. میزان گلیسرول بر حسب میکروگرم بر میلی‌گرم وزن مرطوب در فصل بهار، تابستان، پاییز و زمستان به‌ترتیب در Simuliidae ۱۸/۳۱، ۷/۶۵، ۱۷/۶۳ و ۲۳/۲۱ ، در Tipulidae ۸/۱۹، ۷/۳۶، ۳۰/۳۵ و ۸/۹۷ و در Baetidae ۴۴/۴۳، ۱۷/۸۵، ۳۸/۰۷ و ۱۱/۱۳بود. در Simuliidae مقادیر گلیسرول در فصل تابستان و پاییز اختلاف معنی‌داری نداشت ($P > ۰/۰۵$) ولی با سایر فصول تفاوت معنی‌داری را در نشان داد ($P < ۰/۰۵$). در *Tipulidae* مقادیر گلیسرول در فصل بهار و تابستان تفاوت معنی‌داری را نشان نداد ($P > ۰/۰۵$) و در فصل بهار و زمستان نیز با هم تفاوت معنی‌داری نداشتند ($P > ۰/۰۵$)، ولی مقادیر گلیسرول در فصل پاییز با بقیه فصول تغییرات معنی‌داری را نشان داد ($P < ۰/۰۵$). در Baetidae مقادیر گلیسرول در همه‌ی فصول با هم تفاوت معنی‌داری را نشان داد ($P < ۰/۰۵$). افزایش پلی‌ال‌ها مانند گلیسرول با وزن مولکولی کم ارتباط تنگاتنگی با دیاپوز و آنهیدروبیوزیز دارد و در اوایل پاییز پوره و لارو حشرات در معرض شوک سرمایی قرار گرفته و شروع به افزایش این ترکیبات محافظت کننده می‌کنند و در فصل زمستان به‌عنوان ضدیخ آنها را به مصرف می‌رساند. افزون بر این، پوره و لارو حشرات در فصل بهار میزان این ترکیبات را افزایش می‌دهند تا در تابستان در مواجهه با افزایش دما و خشکی احتمالی قادر به بقا باشند. این مطالعه بیان می‌کند که پوره و لارو حشرات توسط مقادیر گلیسرول به شرایط بوم شناختی محیطی، به‌ویژه در طی منجمد شدن و خشکی پاسخ می‌دهند.

کلید واژگان: Simuliidae، Tipulidae، Baetidae، لارو حشرات، گلیسرول، تغییرات فصلی

* نویسنده مسئول ؛ تلفن: ۰۳۱۳۳۹۱۳۵۶۴ ایمیل: omfarhad@cc.iut.ac.ir

۱. مقدمه

اکوسیستم‌های آبی، سامانه‌های پویا و پایداری هستند که به لحاظ تنوع زیستی و جغرافیایی اهمیت بالایی دارند. پژوهشگران علوم زیستی تاکنون بسیاری از فایده های اکوسیستم‌های آبی را معرفی نموده‌اند اما هنوز ارزش‌های بسیاری در آنها نهفته است که برای شناخت و دستیابی به آنها لازم است تا بررسی زیست شناختی و بوم شناختی می‌باشد (Bradshaw and Holzapfel, 2007; Mahmodi Khoshdaregi, 2009; Hahn and Denlinger, 2011). بی‌مهرگان آبزی بخشی از اکوسیستم‌های آبی را تشکیل می‌دهند که نقش‌های مهمی را در اکوسیستم ها دارند. بی‌مهرگان آبزی نه‌تنها به‌عنوان غذا برای ماهی‌ها، سخت پوستان و پرندگان آبزی هستند بلکه آنها در تجزیه مواد مغذی و مواد آلی نقش مهمی دارند و از برای ارزیابی سلامت رودخانه ها استفاده می‌شوند. اجتماعات بی‌مهرگان بزرگ به‌عنوان شاخص های (نمایه های) زیست‌محیطی، بوم شناختی و تنوع زیستی به‌کار می‌روند (Hahn and Denlinger, 2011; Khaleghi *et al*., 2012; Thorat *et al*., 2012).

در سال‌های اخیر تغییرات اقلیمی جهانی و خشک‌شدن منابع آبی از بزرگ‌ترین تنش‌های محیطی برای زیست جانداران بوده است که سطح دما و رطوبت قابل‌تحمل آن‌ها را تغییر می‌دهد. دما یکی از مهم ترین عوامل تأثیرگذار بر بقا، تولیدمثل و رشد موجودات زنده می‌باشد. از انجاییکه دماهای طاقت‌فرسا می‌تواند کشنده باشند لذا سازگاری دمایی برای بقا همه‌ی موجودات ضروری می‌باشد (Denlinger and Lee, 2010; Soudi and Moharramipour, 2012). سازگاری با دما در موجودات زنده در سه بازه زمانی قابل‌توجه می‌باشد: سازگاری با تغییرات فصلی، سازگاری با تغییرات سریع که در اثر تغییر میزان آب رخ می‌دهد، سازگاری طولانی‌مدت که این نوع سازگاری زمانی رخ می‌دهد که موجود وارد محیط جدید می‌شود و عموماً نیازمند سازگاری ژنتیکی می‌باشد. چهار ساز و کار سلولی برای سازگاری با تغییر دمای محیط پیرامون وجود دارد که عبارت اند از؛ تغییر در میزان آنزیم‌هایی که تأثیرات دما را جبران می‌کنند، تغییر در میزان مواد و عوامل مؤثر در پاسخ به دما، تغییر در شکل و یا تلفیق فعالیت آنزیم‌ها و فعال‌سازی آنزیم‌ها توسط کاتالیزگرهای مؤثر در دماهای مختلف (McLennan and Miller, 1990; van der Horst, D. J., 2003; Lorenz and Gade, 2009).

شوک های گرمایی/سرمایی از عوامل تعیین‌کننده‌ی نوع راهبرد بقای موجود در بی‌مهرگان تلقی می‌شود. خشک‌شدن ازجمله مهم‌ترین تنش‌های وابسته به محیط‌زیست می‌باشد. موجودات زنده راهبردهای مختلفی را برای جلوگیری از خشک‌شدن و یا تحمل خشکی ازطریق روش‌های بوم شناختی، فیزیولوژیکی، ساختاری و بیوشیمیایی اتخاذ کرده‌اند (Bradshaw and Holzapfel, 2007; 2010; Hahn and Denlinger, 2011). آب یک عنصر ضروری برای حیات موجودات است و کمبود آن منجر به اثرهای نامطلوبی بر موجودات زنده می‌شود. مقدار آب بدن حشرات ۷۵-۶۵ درصد وزن مرطوب می‌باشد، اگرچه این دامنه از ۱۷ تا بیش از ۹۰ درصد در دوره‌های مختلف زندگی و در گونه‌های مختلف حشرات متفاوت

است. برخی از حشرات نهان‌زی به‌علت تجمع چربی و سایر سازگاری‌های متابولیکی مقدار آب کمتری نسبت به حشرات فعال نگه‌داری می‌کنند. ذخیره آب در همولنف برخی از گونه‌های نهان‌زی حدود۳۰-۱۰ درصد می‌باشد. این آب ذخیره‌ای به اجزاء اصلی سلولی وابسته است و به سختی جابه‌جا می‌شود که آب غیرفعال اسمزی یا آب پیوندی نام دارد (Danks, 2000; Chown *et al*., 2011; Thorat *et al*., 2012).

نوعی سازگاری ویژه و منحصربه‌فرد در برابر تنش‌های محیطی در بی‌مهرگان آنهیدروبیوزیز[1] است که حالتی از موجودات زنده است که هیچ علائم مشهودی از زندگی را نشان نمی‌دهد و به‌سختی قابل اندازه‌گیری است. موجودات زنده آنهیدروبیوتیک در بسیاری از آرایه‌ها از موجودات زنده تک‌سلولی تا بی‌مهرگان عالی و گیاهان یافت شدند (Watanabe, 2006; Hahn and Denlinger, 2011). برای بقا آنهیدروبیوزیز، موجودات زنده مواد حفاظتی مختلفی را می‌سازند. تجمع قندها و پلی‌ال‌ها مانند گلیسرول به مقدار زیاد ویژگی فیزیولوژیک رایج در میان موجودات زنده آنهیدروبیوتیک است. این قندها و پلی‌ال‌ها شامل گلیسرول، ترهالوز[2]، مانیتول[3]، سوربیتول[4]، اینوسیتول[5]، گلوکز، فروکتوز و ساکاروز هستند (Watanabe, 2003; Watanabe, 2006). وجود گلیسرول در حشرات توسط Wyatt و Kalf (۱۹۸۵) در همولنف شفیره *Hyalophora cecropia* کشف شد. گلیسرول از جمله پلی‌ال‌های با وزن مولکولی کم است که از بافت موجودات در برابر آسیب‌هایی که توسط تشکیل یخ ایجاد می‌شود، محافظت می‌کند (Sømme, 1982; Denlinger and Lee, 2010; Hahn and Denlinger, 2011). اگرچه تحقیقات در خصوص قندها و نقش آنها در بی‌مهرگان خشکی و آبزی به طور موردی انجام شده است لیکن در خصوص تأثیرات عوامل بوم شناختی در طی فصول مختلف و همچنین در زیستگاه‌های مختلف کمتر انجام‌شده و این‌گونه مطالعات بر روی لارو حشرات انجام نشده است. هدف از این پژوهش بررسی تغییرات گلیسرول در لارو حشرات آبزی در فصل های مختلف در رودخانه زاینده رود است.

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. معرفی منطقه مورد مطالعه

منطقه مورد مطالعه در این تحقیق رودخانه زاینده‌رود به عنوان بزرگترین رودخانه فلات مرکزی ایران انتخاب شد. نمونه‌برداری‌ها از دو ایستگاه خرسونک و کلیچه انجام شد. ایستگاه خرسونک با بستر سنگی – قلوه‌سنگی، جریان آب نسبتاً تند، طول جغرافیایی طول جغرافیایی۳۲ درجه و ۳۴ دقیقه و ۱۱ ثانیه شمالی وعرض۵۰ درجه و ۲۲ دقیقه و ۱۷ ثانیه شرقی است. ایستگاه کلیچه در فاصله ۱۱ کیلومتری از ایستگاه خرسونک و در طول جغرافیایی۳۲ درجه و ۳۸ دقیقه و ۰۲ ثانیه شمالی و عرض ۵۰ درجه و ۲۷ دقیقه و ۱۴ ثانیه شرقی قرار دارد. این منطقه دارای آب‌وهوای سرد و کوهستانی، زمستان‌های سرد و برفی بوده است، به‌طوریکه سطح رودخانه در نیمی از فصل زمستان پوشیده از یخ است.

1-Anhydrobiosis
2 -Trehalose
3 -Manitol
4 -Sorbitol
5 -Inositol

۲.۲ نمونه‌برداری

برای بررسی اهداف مورد نظر در این تحقیق شامل تغییرات فصلی گلیسرول در گونه‌های مختلف ناجورپایان، نمونه‌برداری از منطقه مورد نظر، به صورت فصلی از اوایل پاییز ۱۳۹۴ تا اواسط تابستان ۱۳۹۵ از دو ایستگاه مورد نظر انجام گرفت. نمونه برداری در هر فصل به مدت یک روز از ساعت ۹ صبح تا ۲ بعدازظهر، به ترتیب از ایستگاه اول (خرسونک) درفاصله ۴۰ کیلومتری چادگان و ایستگاه دوم (کلیچه) در فاصله ۳۰ کیلومتری چادگان انجام گرفت. ویژگی های فیزیکی و شیمیایی آب هر ایستگاه اندازه‌گیری شد و نمونه‌ها برای آنالیز سایر عوامل به آزمایشگاه هیدروبیولوژی دانشکده منابع طبیعی دانشگاه صنعتی اصفهان منتقل گردید.

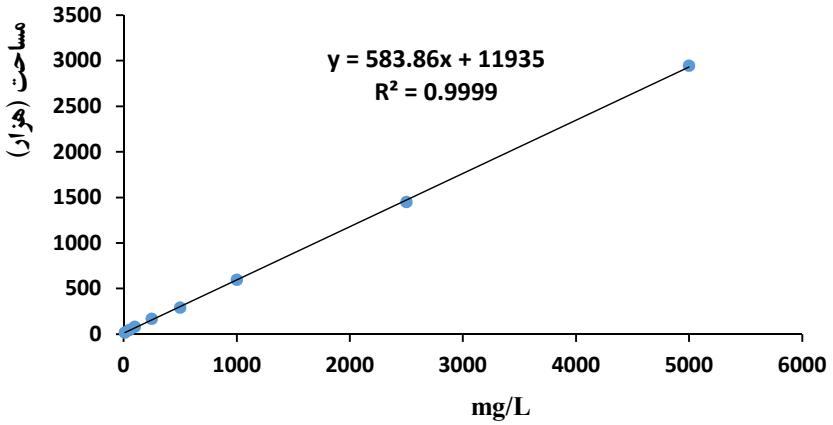
۳.۲ خشک کردن نمونه ها

گروه‌های ۵-۳ تایی از لارو حشرات روی کاغذ صافی ۰/۴۵ میکرو متر، با ۰/۴۴ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیرشده درون پتری دیش‌های شیشه‌ای قرار داده شدند. سپس دو یا سه عدد از این پتری دیش‌ها فوراً به دسیکاتور با کمتر از ۵ درصد رطوبت منتقل شد و در دمای اتاق (۲۶-۲۲ درجه سانتی گراد) در مدت ۴۸ ساعت نمونه‌ها کاملاً خشک گردید (Thorat *et al.*, 2012).

۴.۲ استخراج گلیسرول از نمونه‌های خشک‌شده

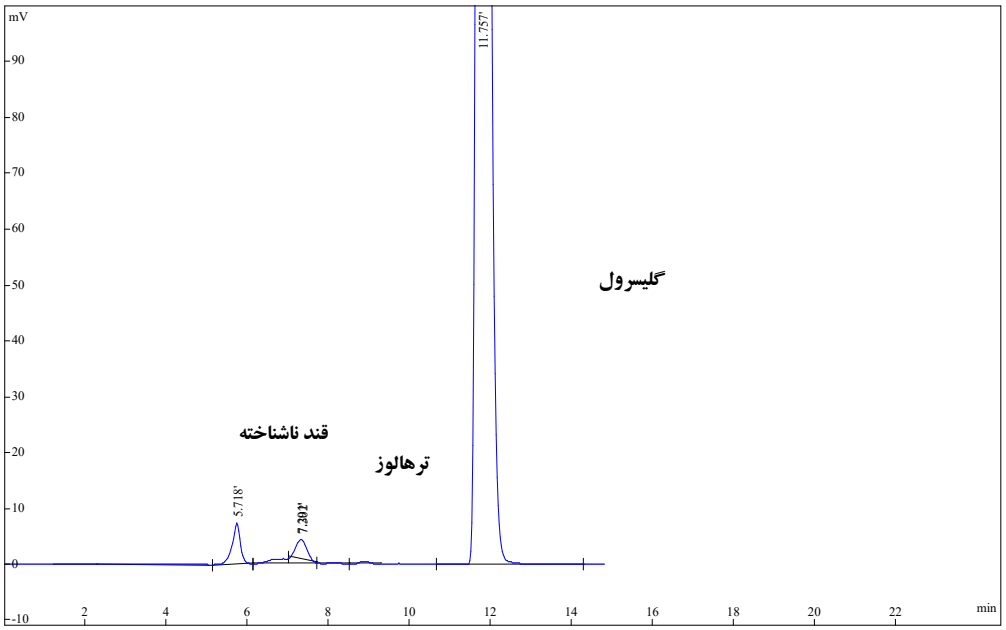
برای استخراج و اندازه‌گیری گلیسرول موجود حدود ۱۵ میلی‌گرم از نمونه‌های خشک‌شده در یک پتری دیش حاوی آب مقطر به مدت ۷۲ ساعت خیسانده شد. سپس آنها به یک لوله آزمایش استریل حاوی ۰/۲ میلی‌لیتر اتانول ۹۰ درصد منتقل و مورد همگن‌سازی به مدت ۲۰ دقیقه با استفاده از ورتکس قرار گرفت. محلول بدست آمده از یک فیلتر سر سرنگی ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد و با استفاده از گاز ازت نمونه ها خشک گردید. پس از تبخیر کامل حلال الکلی، رسوب باقی‌مانده در ۰/۵ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیرشده حل شد و مجددا محلول حاصل از فیلترسرسرنگی ۰/۴۵ میکرومتر عبور داده شد. قندهای الکلی به وسیله دستگاه کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا(HPLC) Chimadzu مجهز به ستون تجزیه کربوهیدرات‌ها (SC1011, Shodex) جداسازی شد. فاز متحرک شامل آب، سرعت فاز متحرک ۱ میلی‌لیتر بر دقیقه و آشکارساز مورد استفاده (RID[6]) بود. جداسازی قندها در دمای ۸۰ درجه‌ی سانتی‌گراد برای ستون و آشکارساز استفاده شد. پس از تنظیمات دستگاه و پایدار شدن آن، نمونه‌ی قند تهیه‌شده از نمونه‌ها به حجم ۵ میکرو لیتر به دستگاه تزریق شد. جهت اندازه‌گیری یا تجزیه کمی قندهای الکلی جداشده از روش رسم منحنی درجه‌بندی شده استفاده شد. برای این منظور استاندارد گلیسرول با غلظت‌های ۱۰ تا ۵۰۰۰ میلی گرم در لیتر (غلظت‌های ۱۰، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۵۰۰ و ۵۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر از گلیسرول به طور جداگانه) به دستگاه تزریق و منحنی استاندارد (سطح زیر پیک برابر غلظت) برای هر غلظت رسم شد (شکل ۱).روش استخراج و اندازه گیری بر اساس Thorat و همکاران در سال ۲۰۱۲ انجام شد.

6- Reflective Index Detector



شکل ۱- منحنی استاندارد HPLC گلیسرول

تغییرات غلظت گلیسرول طی ماه‌های مختلف توسط دستگاه HPLC اندازه‌گیری شد. علاوه بر گلیسرول قند ترهالوز و یک ترکیب قند ناشناخته نیز در کروماتوگرام‌ها مشاهده شد. زمان بازداری برای قندهای ناشناخته، ترهالوز و گلیسرول به ترتیب برابر با دقیقه ۵، ۷ و ۱۱ بود (شکل ۲).



شکل ۲- نمونه‌های کروماتوگرام HPLC مربوط به استانداردهای ترهالوز و گلیسرول.

گلیسرول

قند ناشناخته

۵.۲ تحلیل آماری

به منظور بررسی نرمال بودن داده ها از آزمون کولموگروف- اسمیرنف استفاده شد. اطلاعات بدست آمده به صورت میانگین گزارش گردید. تجزیه داده ها با استفاده از تجزیه واریانس یک طرفه (one-way ANOVA) آزمون شد، در صورت معنی دار بودن مقایسه میانگین داده های مختلف با آزمون دانکن در سطح ۵ درصد بررسی گردید. تمامی کارهای آماری با استفاده از نرم افزارSPSS 16.0 تحلیل شد.

۳. نتایج

در این مطالعه برخی خصوصیات کیفی آب ازقبیل دما، هدایت الکتریکی، سختی آب، اکسیژن و شوری در فصول مختلف اندازه‌گیری شد (جدول۱). نتایج داد که در بهار، تابستان، پاییز و زمستان به‌ترتیب میانگین دما ۱۰، ۱۴، ۱۳ و ۱- درجه سانتی‌گراد، هدایت الکتریکی ۲۵۲، ۲۳۶، ۲۲۰ و ۲۸۴ میکروموس بر سانتی‌متر، سختی آب ۱۸۵، ۱۴۰، ۱۹۰ و ۲۳۰ میلی‌گرم بر لیتر کلسیم کربنات، اکسیژن محلول ۱۱/۲۵، ۱۰/۲۶، ۱۰/۴۹ و ۱۵/۲۹ میلی‌گرم بر لیتر، شوری آب ۱۴۷/۸، ۱۳۸/۴، ۱۲۹/۰۳ و ۱۶۹/۴۱ میلی‌گرم بر لیتر هستند (جدول۱).

در فصول مختلف وزن نمونه‌ها قبل و بعد از خشک کردن اندازه‌گیری شد و به صورت وزن مرطوب و خشک به تفکیک خانواده در جدول۲ آمده است.

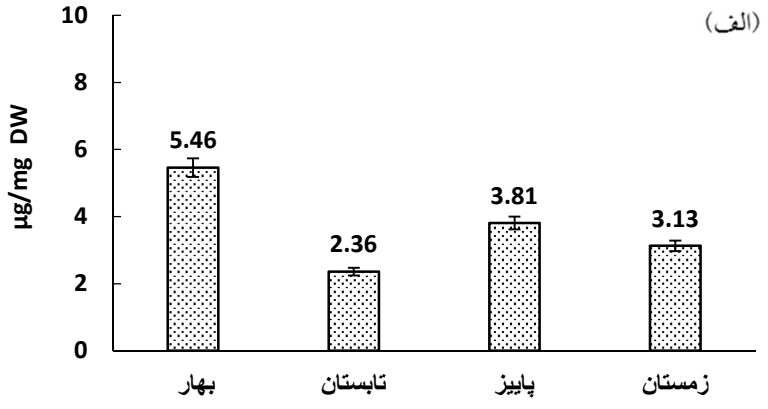
جدول ۱- پارامترهای فیزیک وشیمیایی آب مورد بررسی در هر ایستگاه نمونه برداری.

پارامترها	بهار	تابستان	پاییز	زمستان
دمای آب (°C)	۱۰ -۱	۱۴	۱۳	
هدایت الکتریکی ($\mu mhoscm^{-1}$)	۲۵۲ ۲۸۴	۲۳۶	۲۲۰	
سختی آب (mg/L $CaCO_3$)	۱۸۵ ۲۳۰	۱۴۰	۱۹۰	
اکسیژن (mg/L)	۱۱/۲۵ ۱۵/۲۹	۱۰/۲۶	۱۰/۴۹	
شوری (mg/L)	۱۴۷/۸ ۱۶۹/۴۱	۱۳۸/۴	۱۲۹/۰۳	

جدول ۲- میانگین تغییرات وزن خشک و وزن مرطوب در افراد از خانواده‌های مختلف حشرات طی فصول مختلف.

	وزن مرطوب (mg)			وزن خشک (mg)		
	Baetidae	Tipulidae	Simuliidae	Baetidae	Tipulidae	Simuliidae
بهار	۱۰/۹۱	۷۹/۷۵	۳/۸۳	۱/۲۴	۱۷/۸	۱/۱۴۲
تابستان	۱۹/۴۷	۱۸/۷	۵/۳۴	۲/۳۵	۵/۹	۱/۶۴
پاییز	۹/۰۵	۱۶۳	۲/۶۶	۰/۹	۸/۰۵	۰/۵۷۵
زمستان	۱۱/۴	۱۲۰	۷/۲۵	۰/۹۷	۵۵/۹۵	۰/۹۷۸

نتایج تغییرات فصلی گلیسرول برحسب میکروگرم بر میلی‌گرم وزن خشک در Simuliidae، Tipulidae و Baetidae در شکل ۳ (الف، ب، ج) نشان داده شده است. این نتایج بیان می‌کند که میزان قند گلیسرول Simuliidae در فصل بهار، تابستان، پاییز و زمستان به‌ترتیب برابر با ۵/۴۶، ۲/۳۶، ۳/۸۱ و ۳/۳۱ و برای Tipulidae ۱/۸۲، ۲/۳۲، ۱/۴۹ و ۴/۱۸ و برای Baetidae ۵/۰۶، ۲/۱۵، ۳/۷۸ و ۰/۹۵ هستند. در خانواده Simuliidae بیشترین میزان گلیسرول در فصل بهار معادل با ۵/۴۶ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن خشک وکمترین آن در فصل تابستان معادل با ۲/۳۶ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن خشک اندازه‌گیری شد (شکل۳-الف). در خانواده Tipulidae بیشترین میزان گلیسرول در فصل زمستان معادل با ۴/۱۸ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن خشک وکمترین آن در فصل پاییز معادل با ۱/۴۹ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن خشک اندازه‌گیری شد (شکل ۳-ب). در خانواده Baetidae بیشترین میزان در فصل بهار معادل با ۵/۰۶ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن خشک و کمترین آن در فصل زمستان معادل با ۰/۹۵ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن خشک می‌باشد (شکل ۳-ج).

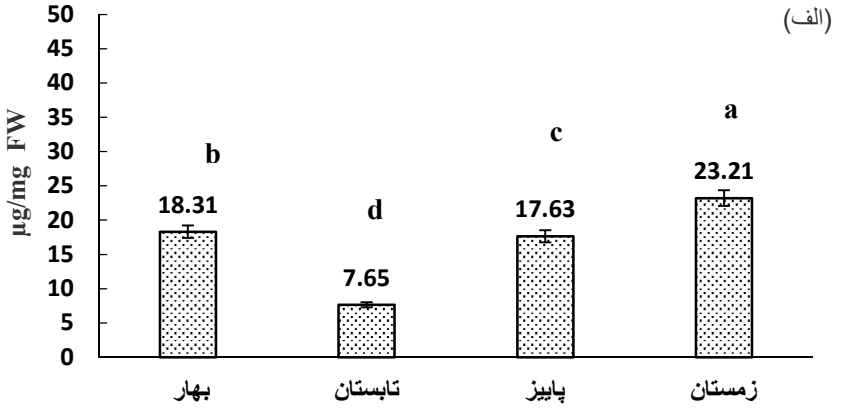


(ب)

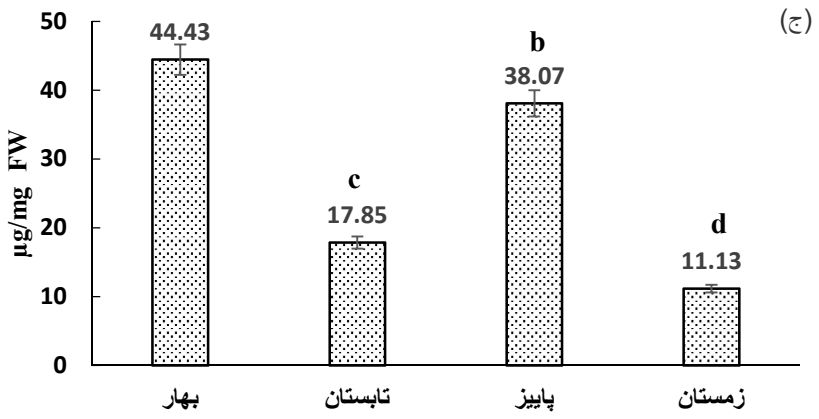
شکل ۳- تغییرات فصلی گلیسرول برحسب میکروگرم بر میلی گرم وزن خشک در خانواده Simuliidae (الف)، Tipulidae (ب)، Baetidae (ج).

نتایج تغییرات فصلی گلیسرول برحسب میکروگرم بر میلی‌گرم وزن مرطوب در Simuliidae، Tipulidae و Baetidae در شکل ۴ (الف، ب، ج) ارائه شده است. این نتایج بیان می‌کنند که میزان گلیسرول Simuliidae در فصل بهار، تابستان، پاییز، زمستان به‌ترتیب ۱۸/۳۱، ۷/۶۵، ۱۷/۶۳ و ۲۳/۲۱ و برای Tipulidae ۸/۱۹، ۷/۳۶، ۳۰/۳۵ و ۸/۹۷ و برای Baetidae ۴۴/۴۳، ۱۷/۸۵، ۳۸/۰۷ و ۱۱/۱۳ می‌باشد. در Simuliidae بیشترین میزان گلیسرول در فصل زمستان معادل با ۲۳/۲۱ وکمترین آن در فصل تابستان معادل با ۷/۶۵ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن مرطوب است. در این خانواده مقادیر گلیسرول در فصل تابستان و پاییز اختلاف معنی‌داری ندارند ولی با سایر فصول تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵ درصد نشان می‌دهند (شکل۴- الف). در Tipulidae بیشترین میزان گلیسرول در فصل پاییز معادل با ۳۰/۳۵ وکمترین آن در فصل تابستان معادل با ۷/۳۶ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن مرطوب بود. در این خانواده مقادیر گلیسرول در فصل بهار و تابستان تفاوت معنی‌داری را نشان ندادند و در فصل بهار و زمستان نیز با هم تفاوت معنی‌داری

نداشتند ولی مقادیر گلیسرول در فصل پاییز با بقیه فصول تغییرات معنی‌داری را در سطح ۵ درصد نشان دادند (شکل ۴- ب). در Baetidae بیشترین میزان این گلیسرول در فصل بهار معادل با ۴۴/۴۳ و کمترین آن در فصل زمستان معادل با ۱۱/۱۳ میکروگرم بر میلی‌گرم وزن مرطوب می‌باشد و مقادیر گلیسرول در همه‌ی فصول با هم تفاوت معنی‌داری را در سطح ۵ درصد نشان دادند (شکل ۴- ج).

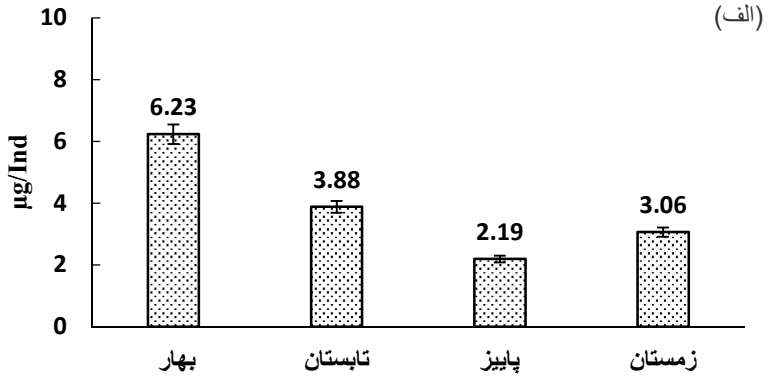


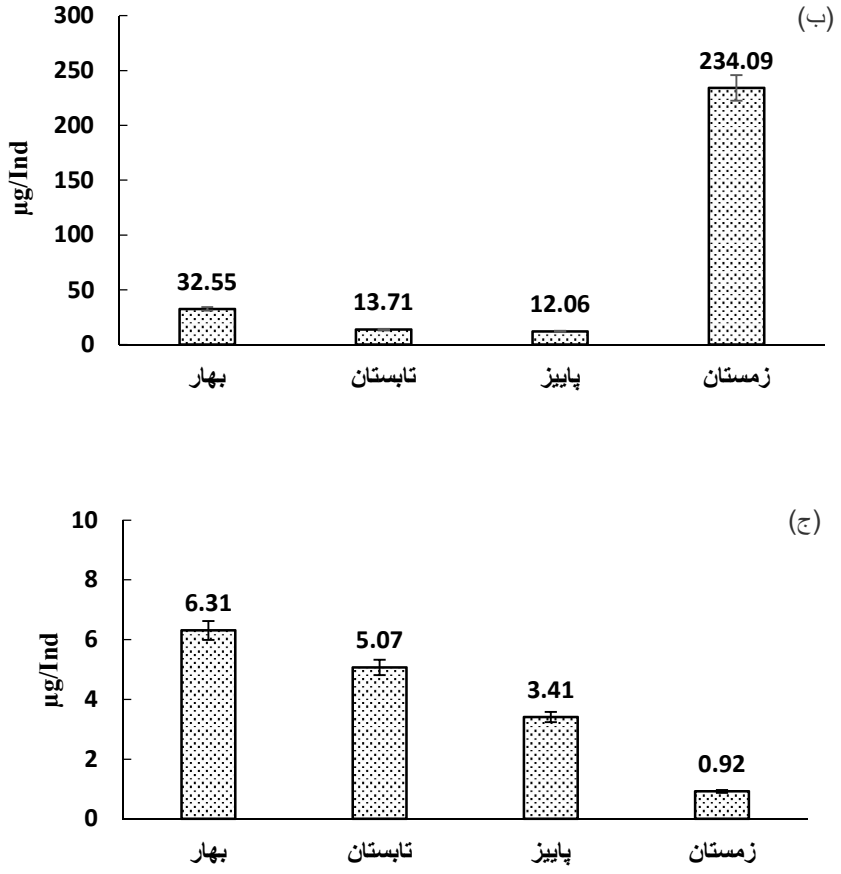
a



شکل ۴- تغییرات فصلی گلیسرول برحسب میکروگرم بر میلی گرم وزن مرطوب در خانواده Simuliidae (الف)، Tipulidae (ب)، Baetidae (ج)

نتایج تغییرات فصلی گلیسرول برحسب میکروگرم به ازاء هر فرد در Simuliidae، Tipulidae، Baetidae در شکل ۵ (الف، ب، ج) بیان شده است. بر این اساس میزان گلیسرول Simuliidae در فصل بهار، تابستان، پاییز و زمستان به‌ترتیب برابر با ۶/۲۳، ۳/۸۸، ۲/۱۹ و ۳/۰۶ و برای Tipulidae ۳۲/۵۵، ۱۳/۷۱، ۱۲/۰۶ و ۲۳۴/۰۹ و برای Baetidae ۶/۳۱، ۵/۰۷، ۳/۴۱ و ۰/۹۲ هستند. در Simuliidae بیشترین میزان گلیسرول در فصل بهار ۶/۲۳ وکمترین آن در فصل پاییز معادل با ۲/۱۹ میکروگرم به ازاء هر فرد اندازه‌گیری شد (شکل ۵-الف). در خانواده Tipulidae بیشترین میزان گلیسرول در فصل زمستان معادل با ۲۳۴/۰۹ وکمترین آن در فصل پاییز ۱۲/۰۶ میکروگرم به ازاء هر فرد اندازه‌گیری شد (شکل ۵-ب). در خانواده Baetidae بیشترین میزان این در فصل بهار معادل با ۶/۳۱ و کمترین آن در فصل زمستان ۰/۹۲ میکروگرم به ازاء هر فرد بود (شکل ۵- ج).





شکل ۵- تغییرات فصلی گلیسرول برحسب میکروگرم به ازاء هر فرد در خانواده Simuliidae (الف)، Tipulidae (ب)، Baetidae (ج).

۳. بحث و نتیجه گیری

جوامع بی‌مهرگان آبزی به‌ویژه حشرات و سخت‌پوستان آبزی شاخص‌های زیست‌شناختی و بوم‌شناختی با اهمیت در اکوسیستم‌های آبی هستند. پاسخ بیوشیمیایی بسیاری از این موجودات زنده به تغییرات زیست محیطی مانند شرایط دشوار دمایی و خشکی قابل ملاحظه است (Hahn and Denlinger, 2011; Thorat *et al*., 2012). در واقع، تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی برای محفوظ ماندن بی‌مهرگان از اثرهای سوء ناشی از دماهای کاملا بحرانی کم و زیاد رخ می‌دهد. چنین شرایطی در طی دوره‌های زمستان‌گذرانی و شرایط شوک دمایی تابستان در بدن حشرات مشهود است (Bradshaw and Holzapfel, 2007; 2010; Hahn and Denlinger, 2011). برای نمونه، افزایش غلظت ترکیبات با وزن مولکولی کم شامل قندها و پلی‌ال‌ها می‌شود. رایج‌ترین پلی‌ال شناخته‌شده در بی‌مهرگان گلیسرول است (Burke, 1986; Denlinger and Lee, 2010). این ترکیبات به حفظ ساختار طبیعی غشاهای سلولی و پروتئین‌ها در

شوک‌های دمایی کمک می‌کنند و به این ترتیب باعث افزایش تحمل بی‌مهرگان در دماهای کم در زمستان و دماهای زیاد در تابستان می‌شود (Lee, 1991). سنتز ترهالوز به‌همراه گلیسرول از رایج‌ترین پاسخ حشرات به استرس‌های دمایی است. این واکنش در مخمر و نماتودها نیز گزارش شده است (Doucet *et al.* 2009). در این مطالعه، تغییرات فصلی مقدار گلیسرول در خانواده‌های Simuliidae، Tipulidae و Baetidae چشمگیر بود (شکل ۳، ۴، ۵). گلیسرول در Simuliidae در فصل زمستان بیشترین میزان را نشان داد؛ میتوان چنین استدلال کرد که گلیسرول در این خانواده لارو حشرات می‌تواند به‌عنوان یک ترکیب ضدیخ محسوب شود. گلیسرول در Tipulidae در فصل پاییز به بیشترین میزان رسید برای‌اینکه بتواند شوک سرمایی را تحمل کند و در خانواده Baetidae در فصل بهار بیشترین میزان خود را نشان داد تا بتواند شرایط طاقت فرسای افزایش دما در تابستان را تحمل کند.

تفاوت در مقادیر گلیسرول در این مطالعه طی فصل های مختلف در حشرات از خانواده‌های مختلف را می‌توان به واکنش حشرات به عوامل محیطی مانند دمای آب و یخبندان و سایر عوامل غیرزیستی گوناگون نسبت داد. در این مطالعه بیشترین مقدارهای گلیسرول در دو فصل پاییز و بهار اندازه‌گیری شد. به‌طور نسبتاً مشابهی Vanin و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی تغییرات فصلی غلظت‌های ترهالوز و گلیسرول در حشرات نشان دادند که در آذر ماه غلظت بالاتری ترهالوز و گلیسرول را نسبت به اسفند ماه دارند. در این مطالعه استدلال ما این است که حشرات این مناطق بیش‌تر در معرض تنش ناشی از سرما می‌باشد. علاوه بر این Chown و همکاران (۲۰۱۱) گزارش دادند که تغییر زیستگاه و آب و هوا تأثیرات قابل‌توجهی روی جمعیت‌های بندپایان دارند. آن‌ها بیان کردند که در بسیاری از حشرات هردو عامل خشک شدن و دمای کم تولید گلیسرول را القاء می‌کند. میزان گلیسرول بدن در حشرات دو نقش دارد. یکی اینکه گلیسرول به گلوکز و یا ترهلوز تبدیل می شوند که چربی بدن را به بافت‌ها منتقل می نمایند و دیگر اینکه گلیسرول می تواند به قند-الکل و مولکولهای قندی محافظت کننده از سرماتولید مینمایند (Hahn and Denlinger, 2011).تولید مواد محافظت کننده از سرما از گلیکوژن می تواند هم در حالت دیاپوز و هم بدون دیاپوز در دماهای خیلی کم رخ می دهد. برای نمونه، حشره *Sarcophaga crassipalpis* میتواند مقدارهای زیادی از گلیسرول دارند و تحمل ا به سرما دارند که نشان دهنده این است که مقادیر گلیسرول در زمان دیاپوز افزایش دارد (Denlinger and Lee, 2010). Storey و Storey (۱۹۹۰) بیان کردند که تغییرات سریع در مصرف مواد غذایی در حشره *Eurosta solidaginis* در مرحله دیاپوز، تبدیل ذخایر گلیکوژن به گلیسرول در پاسخ به دمای کم در پاییز رخ می‌دهد و وابسته به دما هستند. در فصل بهار با زیاد شدن دمای محیط بخش زیادی از گلیسرول مجددا بصورت گلیکوژن ذخیره و تبدیل می‌شود. دلیل دیگر احتمالی در افزایش میزان گلیسرول را می‌توان به هورمونهای آدیپوکینتیک (Adipokinetic Hormones, AKHs) نسبت داد که در متابولیسم چربی، گلیکوژن و حتی

آمینواسیدها را تنظیم مینماید (van der Horst, 2003; Lorenz and Gade, 2009).

از آنجایی‌که منطقه مورد مطالعه جزء مناطق سردسیری طبقه‌بندی می‌شود که در فصل زمستان دوره‌های یخبندان را تجربه می‌نماید، این سه خانواده مورد بررسی از پوره و لارو حشرات برای سازگاری در این مناطق سازوکاری را اتخاذ کرده‌اند که با افزایش قندهای با وزن مولکولی کم همچون گلیسرول قبل از شروع چنین تنش‌هایی آمادگی لازم را برای زمستان‌گذرانی داشته باشند. در تابستان نیز به علت افزایش چند برابری دمای آب که از پایان زمستان تا اواخر بهار رخ می‌دهد پوره و لارو حشرات مورد مطالعه برای بقا در برابر شرایط خشکی احتمالی مقادیر این دو قند را افزایش می‌دهند.

۴. تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشکده منابع طبیعی، معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه صنعتی اصفهان به لحاظ فراهم نمودن اعتبار پژوهشی تشکر و سپاسگزاری می‌شود.

References:

Bradshaw, W. E. and Holzapfel C.M., 2007. Evolution of animal photoperiodism. Annual Review of Ecology and Systematics 38: 1–25.

Bradshaw, W. E. and Holzapfel, C. M., 2010. Insects at not so low temperature: climate change in the temperate zone and its biotic consequences. In: Low Temperature Biology of Insects, ed. D. L. Denlinger, R. E. Lee, pp. 242–75. Cambridge, U.K: Cambridge University Press.

Burke, M. J., 1986. The glassy state and survival of anhydrous biological systems. In membranec, metabolism, and dry organisms. Comstock Publishing Associate, Cornell University Press, Ithaca. pp. 358-363.

Chown, S. L.; Sorensen, J. G. and Terblanche, J. S., 2011. Water loss in insects: an environmental change perspective. Journal of Insect Physiology 57(8): 1070-1084.

Danks, H.V., 2000. Dehydration in dormant insects. Journal of Insect Physiology 46: 837-852.

Denlinger, D. L. and Lee, R. E., 2010. Low Temperature Biology of Insects. Cambridge, UK: Cambridge Univ. Press, 390 pp.

Doucet, D., Walker, V. K. and Qin, W., 2009. The bugs that came in from the cold: molecular adoptions to low temperatures in insects. Cellular and Molecular Life Science 66: 1404-1418.

Hahn, D. A. and Denlinger, D.L., 2011. Energetics of insect diapause. Annual Review of Entomology 56: 103-121.

Khaleghi, M., Sharifian, S. and Sadough, A., 2012. Bioindicators and the use of living organisms to assess environmental impacts in marine societies. The first national conference on the development of the Makoran coast and the Islamic Republic of Iran's naval authority. Maritime and Marine Science University of Chabahar, Iran. Pp. 68-76.

Lee, R. E., 1991. Principles of insect low temperature tolerance. In Lee, R. E. and Denlinger, D. L. Insects at Low Temperature. Chapman & Hall, New York, pp: 17–46.

Lorenz, M. W. and Gade, G., 2009. Hormonal regulation of energy metabolism in insects as a driving force for performance. Integrative and Comparative Biology 49: 380–392.

Mahmodi Khoshdaregi, M., 2009. The effect of seasonal variations on the composition of zooplankton amino acids in the Henna lagoon. Master's degree in Fisheries, Department of Fisheries,

Natural Resources Faculty, Isfahan University of Technology, Iran. 129 p.

McLennan, A.G. and Miller, A., 1990. A biological role for the heat shock response in crustaceans. Journal of Thermal Biology 15(1): 61-66.

Sømme, L., 1982. Supercooling and winter survival in terrestrial arthropods. Comparative Biochemistry and Physiology 73: 519-543.

Soudi, S. and Moharramipour, S., 2012. Seasonal patterns of the thermal response in relation to sugar and polyol accumulation in overwintering adults of elm leaf beetle, *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera: Chrysomelidae). Journal of Thermal Biology 37: 384-391.

Storey, K. B. and Storey, J. M., 1990. Metabolic rate depression and biochemical adaptation in anaerobiosis, hibernation and estivation. The Quarterly Review of Biology 65: 145–174

Thorat, L. J., Gaikwad, S. M. and Nath, B. B., 2012. Trehalose as an indicator of desiccation stress in Drosophila melanogaster larvae: A potential marker of anhydrobiosis. Biochemical and Biophysical Research Communications 419: 638-642.

van der Horst, D. J., 2003. Insect adipokinetic hormones: release and integration of flight energy metabolism. Comparative Biochemistry and Physiology B 136: 217–226.

Vanin, S., Bubacco, L., and Beltramini, M., 2008. Seasonal variation of trehalose and glycerol concentrations in winter snow-active insects. CryoLetters 29: 485-491.

Watanabe, M., 2006. Anhydrobiosis in invertebrates. Applied Entomology and Zoology 41: 15-31.

Watanabe, M., Kikawada, T. and Okuda, T., 2003. Increase of internal ion concentration triggers trehalose synthesis associated with cryptobiosis in larvae of Polypedilum vanderplanki. The Journal of Experimental Biology 206: 2281-2286.